

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 2 月 10 日 (10.02.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/012902 A1

(51) 国際特許分類⁷:
C07K 14/00, C12N 15/09

G01N 33/50, 33/15,

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 有限会社 ジーン・フィールド (GENEFIELD, INC.) [JP/JP]; 〒1530041 東京都目黒区駒場 4 丁目 3 番 3 7 号 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/011308

(22) 国際出願日: 2004 年 7 月 30 日 (30.07.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2003-205139 2003 年 7 月 31 日 (31.07.2003) JP
特願 2003-416228
2003 年 12 月 15 日 (15.12.2003) JP

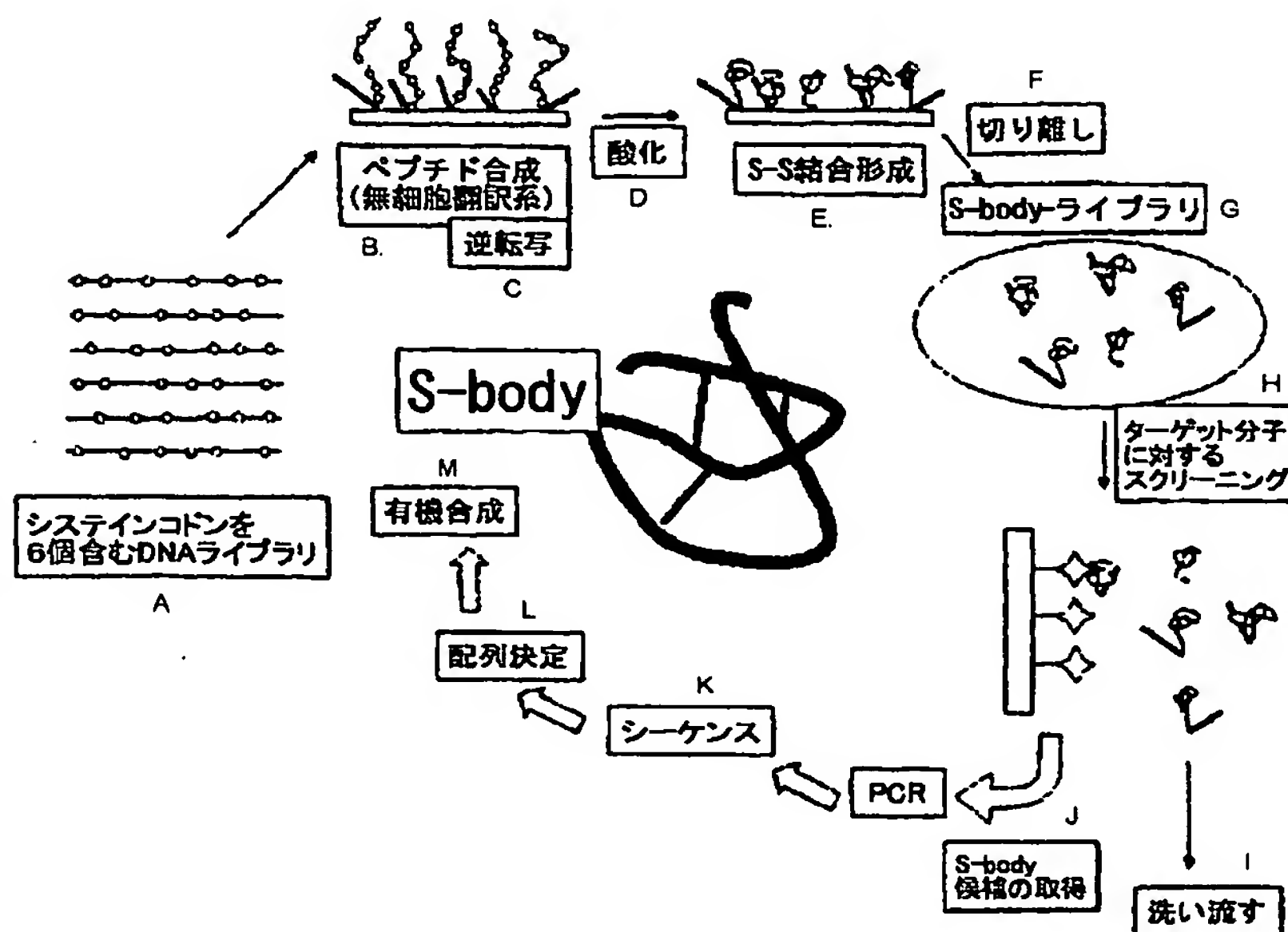
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 根本 直人 (NEMOTO, Naoto) [JP/JP]; 〒2600017 千葉県千葉市中央区要町 5-5 ロイヤルハイネス 505 Chiba (JP). 山口 淳一 (YAMAGUCHI, Jun-ichi) [JP/JP]; 〒3330845 埼玉県川口市上青木西 1-19-39 滝澤ビル 402 Saitama (JP).

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF SCREENING USEFUL PROTEIN

(54) 発明の名称: 有用タンパク質のスクリーニング方法



A...DNA LIBRARY CONTAINING 6 CYSTEINE CODONS
B...PEPTIDE SYNTHESIS (CELL-FREE TRANSLATION SYSTEM)
C...REVERSE TRANSCRIPTION
D...OXIDATION
E...S-S BOND FORMATION
F...CUTTING
G...S-body-LIBRARY
H...SCREENING TO TARGET MOLECULE
I...WASHING OFF
J...ACQUISITION OF CANDIDATE FOR S-body
K...SEQUENCING
L...DETERMINATION OF SEQUENCE
M...ORGANIC SYNTHESIS

(57) Abstract: It is intended to provide a method of specifying a useful protein which comprises transferring cysteine residues at random into an amino acid sequence, thus synthesizing a protein having disulfide bonds at random and then analyzing the function of the protein. This object can be achieved by providing, for example, a screening method involving the following steps: (a) the step of preparing one or more mRNAs encoding a protein containing at least two cysteine residues and binding each of the obtained mRNA(s) to puromycin or a puromycin-like compound to give mRNA-puromycin conjugate(s); (b) the step of bringing the mRNA-puromycin conjugate(s) obtained in the step (a) into contact with a translation system to synthesize protein(s), thereby giving mRNA-puromycin-protein conjugate(s); and (c) the step of bringing the mRNA-puromycin-protein conjugate(s) obtained in the step (b) into contact with one or more target substances and judging whether or not any of the proteins in the mRNA-puromycin-protein conjugate(s) interacts with the target substance.

(57) 要約: 本発明の課題は、システイン残基をランダムにアミノ酸配列中に導入することによってジスルフィド結合をランダムに有するタンパク

質を合成し、そのタンパク質の機能を解析することによって有用タンパク質を特定する方法であって、(a) 少なくとも

[続葉有]



(74) 代理人: 清水 初志, 外(SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒3000847 茨城県土浦市卸町 1-1-1 関鉄つくばビル 6 階 Ibaraki (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

も2以上のシステイン残基を含むタンパク質をコードするmRNAを1以上調製し、得られたmRNAのそれぞれをピューロマイシン又はピューロマイシン様化合物と連結してmRNA-ピューロマイシン連結体 (群) を得る工程; (b) 工程 (a) で得られたmRNA-ピューロマイシン連結体 (群) と、翻訳系とを接触させてタンパク質を合成し、mRNA-ピューロマイシン-タンパク質連結体 (群) を調製する工程; 及び (c) 工程 (b) において調製されたmRNA-ピューロマイシン-タンパク質連結体 (群) と1以上の標的物質とを接触させ、mRNA-ピューロマイシン-タンパク質連結体 (群) 中のいずれかのタンパク質と該標的物質とが相互作用しているか否かを判定する工程を含む上記スクリーニング方法等によって解決される。